

SZAKMAI ZÁRÓJELENTÉS

A KUTATÁSI PROGRAM MÓDOSULÁSA ÉS A MÓDOSULÁS INDOKLÁSA

A 2002-ben elfogadott kutatási tervben vázolt protokollok kivétel nélkül megvalósultak, a mérési anyagok a tudományág legrangosabb angol nyelvű folyóirataiban jelentek meg. Változást elsősorban a kutatások elvégzése során felmerülő, és az eredeti tervhez tematikailag szorosan kapcsolódó, de a pályázati anyagban eredetileg nem tervezett kutatások hoztak. Mivel e mérések elvégzését részben az OTKA pályázat támogatásával kiépített infrastrukturális háttér tette lehetővé, és ezen mérések módszertanukban és eredményeikben is szorosan kapcsolódnak a pályázatba foglalt állatkísérletes modellekhez, az OTKA támogatás elismerését szükségesnek tartottam feltüntetni a kapcsolódó közleményekben. A kutatási terv megvalósulásának részletei:

- A kutatási terv V.3.5.1 és V.3.5.3-V.3.5.5 protokollok kisebb, a mérések módszertanát tökéletesítő változásokkal megvalósultak; a mérési anyagokat angol nyelvű folyóiratokban közöltük.
- A kísérleti tervben vázolt V.3.5.2 protokollban eredetileg a farmakológiai előkezeléseken kívül inhalációs anesztetikumok allergiás reakciót csökkentő hatásának vizsgálatát is terveztük. Korábbi kutatásaink azonban rávilágítottak az altatógázok kedvező hatásaira a kórosan emelkedett légúti és szöveti mechanikára ovalbuminnal szenzitizált tengerimalacokon (*részletezve I/2 pontban*), így e már publikált mérési anyaghoz hasonló kísérletek végzését nem tartottuk indokoltnak.

A tervezett állatkísérletes protokollokhoz kapcsolódva a pályázati tervben eredetileg nem szereplő kutatásaink a következők voltak:

- A légzésmechanikai paraméterek és a funkcionális tüdőterefogat együttes mérése az előbbieken bekövetkező változások értelmezéséhez járultak hozzá (I/3).
- 2003-ban humán méréseket végeztünk a keringés és légzés kölcsönhatásának vizsgálatára (II/2). E kutatásaink a kísérletes módszereink klinikai környezetre irányuló kiterjesztésének kezdetét vetítik elő.
- A bronchoalveoláris lavage és a légzésmechanikai vizsgálatok kombinációjának neminvaszív továbbfejlesztése utat nyithat ismételt longitudinális kísérletek elvégzésére túlélő patkányokon (III/3).
- Aneszteziológiai gyakorlatban rutinszerűen alkalmazott magas oxigén koncentrációjú lélegeztetés huzamosabb idejű fenntartása a tüdőszövetek károsodásához vezet. E kóros állapot kialakulásáért felelős mechanizmusok tisztázására irányuló, egereken végzett kísérleteink az endothelin-1 fontos szerepét tárták föl (IV/1).
- Malacokon végzett kutatásaink a légzésmechanikai paraméterek mérésén túl, a légzési hangok analízisének fontosságára hívták fel a figyelmet a tüdőperifériát érintő kóros állapotok detektálásában (IV/3).

KUTATÁSOKBAN RÉSZTVEVŐK SZEREPE

A kutatási pályázatban feltüntetett kollegám Tolnai József a mérési adatok számítógépes kiértékelésére használt szoftver fejlesztésében vállalt fontos szerepet. Egyre nagyobb rutint szerzett a mérési eredmények kiértékelésében, különös tekintettel a légzési hangok analízisére. E témát érintő tudományos közleményekben társszerzőként szerepel.

Ifjúsági OTKA pályázat révén a benyújtott munkatervben kizárólag 35 év alatti kutatók szerepelhettek. A projekt megvalósítása során ugyanakkor nélkülözhetetlen volt az SZTE Sebészeti Műtéttani Intézetéből Dr. Adamicza Ágnes részvétele az állatkísérletes protokollok megvalósításában, aki a korhatár miatt nem szerepelhetett a kutatási szerződésben. Dr. Adamicza Ágnes számára utalt megbízási díj az állatkísérletek során elengedhetetlen rendszeres szakértő tevékenységét és a sebészi preparációban való részvételt tükrözi. Adamicza doktornővel

folymatosan dolgoztunk a nyulak szentitizálásának tökéletesítésén, és az ehhez a témához kapcsolódó kísérletes protokollok végrehajtásán.

Az „egyéb megbízási díj” címén juttatott díjak a kísérleti állatok gondozásáért és a sebész asszisztenciáért kerültek kifizetésre. Esetenként a kiszolgáló személyzet létszáma és munkája jelentősebb volt a társkutatóknál (pl. 2005-ben). Ebben az esetben a „Személyi juttatások” rovatban szereplő keretet átcsoportosítottam, és az „Egyéb megbízások” összegét megnöveltem az „Egyéni kutatói megbízás” rovására.

RÉSZTVEVŐ KUTATÓHELYEK

A pályázati anyagban vázoltaknak megfelelően (V.6. pont), a kutatási tervbe foglalt protokollok három kutatóintézet együttműködésével folytak. A témavezető a Szegedi Tudományegyetem Orvosi Informatikai Intézetében a kísérleti összeállítások és protokollok tervezését, a mérési adatok elemzését és értelmezését, illetve a közlemények elkészítését irányította. Az állatkísérletek egyrészt a Szegedi Tudományegyetem Sebészeti Műtéttani Intézetében, a genfi Kísérletes Aneszteziológiai Kutatóintézet laboratóriumában történtek, minden esetben a témavezető személyes irányításával. A svájci laboratóriumban a keringési-légzésmechanikai kölcsönhatásokkal kapcsolatos, nagy műszerigényű mérések zajlottak.

ELVÉGZETT KUTATÓMUNKA RÉSZLETEZÉSE

I. 2002 évben végzett kutatások:

I/1. Módszertani tanulmány légúti hiperreaktivitás előidézésére nyulakban

A pályázat által támogatott kutatási tevékenységet olyan állatkísérletes modell tanulmányozásával kezdtük, mely a továbbiakban alkalmas lehet aneszteziológiai gyakorlatban előforduló bronchokonstriktós állapotok vizsgálatára allergiás eredetű légúti hiperreaktivitás körképében. E munka elsődleges célja egy olyan állatkísérletes modell kidolgozása volt, mely a későbbi tanulmányok során lehetőséget ad annak tisztázására, hogy mely izomrelaxáns használata a legalkalmasabb légúti hiperreaktivitás esetén. Erre a célra nyulakat alkalmaztunk, mivel korábbi eredményeink alapján ezen állatfaj alkalmasnak bizonyult endogén hisztamin felszabadító anesztetikumok beadása következtében létrejött légúti és szöveti válaszok tanulmányozására (*Anesthesiology* 96: 409-15, 2002).

Kísérleteinket nyulak két csoportján végeztük. A kontroll csoport ($n = 6$) állatainál előkezelést nem alkalmaztunk, míg a másik csoportban ($n = 6$) az allergiás tüneteket szenzitizálással idéztünk elő. A szenzitizálást 0,5 ml 100 μ g ovalbumin és 10 mg alumínium hidroxid keverékének intraperitoneális beadásával kezdtük, majd az ovalbumin egy hétig történő, naponta ismételt aeroszolozott bevitelével folytattuk (1% ovalbumin 5 percig). Kísérleteinket a kezdeti beavatkozástól számított tizedik napon végeztük. A légúti hiperreaktivitást metakolin (MCh; 1, 2, 4, 8 μ g/kg/min iv infúzió) és hisztamin (4, 8, 16, 32 μ g/kg iv bólus) provokációval teszteltük. Endogén hisztamin légúti és tüdőszöveti hatásait 2 mg/kg mivacurium iv beadását követően elemeztük. A légúti és a tüdőszövet mechanikai paramétereinek szeparált becslésére alacsonyfrekvenciás kényszerített oszcillációt alkalmaztunk, mely során álvéletlen, összetett nyomás-gerjesztőjelet vezettünk a tracheába a mechanikai lélegeztetésbe iktatott rövid apnoé (10 s) alatt. A gerjesztés alatt mért tracheális nyomás és áramlásjelekből a tüdő bemenő impedanciáját (ZL) számítottuk a nyitott mellkasú nyulakban a 0,5-21 Hz frekvenciatartományban. ZL mérésekből a légúti ellenállás (Raw), az inertansz (Iaw) valamint a szöveti csillapítás (G) és rugalmasság (H) együtthatóit modellillesztéssel nyertük.

A MCh és hisztamin provokációk nagyobb légúti válaszokat eredményeztek a szenzitizált nyulakban ($263 \pm 55\%$ ill. $88 \pm 16\%$ emelkedés a légúti ellenállásban MCh-ra ill. hisztaminra) mint a kontroll állatokban ($153 \pm 20\%$ ill. $165 \pm 34\%$, $p = 0,09$ ill. $p = 0,06$). Mivacurium hatására

felszabaduló endogén hisztamin hatása is erőteljesebb volt a szenzitizált nyulakban ($33\pm 5\%$) mint a kontroll állatokban ($19\pm 4\%$, $p=0,06$).

Ezen eredmények légúti hiperreaktivitás jelenlétére utalnak a szenzitizált nyulakban. Ugyanakkor későbbi tanulmányainkban a csoportokba bevont nyulak számának növelése, a csoportok homogénebb kialakítása, és valószínűleg a szenzitizálás időtartamának meghosszabbítása szükséges a statisztikai módszerekkel is egyértelműen kimutatható különbség igazolásához.

I/2. Inhalációs anesztetikumok terápiás hatásának mérése

Bár az inhalációs anesztetikumokról számos vizsgálat bebizonyította, hogy megelőző alkalmazásuk csökkenti a konstriktor szerek hatására kialakult légúti szűkületet, a már kialakult konstriktor-reakciók visszafordításában játszott szerepük nem tisztázott. Ezért vizsgáltuk inhalációs anesztetikumok hatásait a légúti és tüdőszöveti mechanikai paraméterekre ovalbuminnal szenzitizált tengerimalacokon.

A kísérleti állatok szenzitizálását a nyulaknál alkalmazott protokollnak megfelelően végeztük. Az állatok előkészítése után 4-6 kontroll ZL adatot gyűjtöttünk a tüdőmechanika alapértékeinek megállapítására. Ezt követően az állandó mértékű pulmonális konstriktiót MCh 32 $\mu\text{g/kg/min}$ dózisu infúziójával idéztük elő. MCh infúzió alatti méréseket követően kezdtük az inhalációs anesztetikumok adását, ami alapján a tengerimalacokat véletlenszerűen öt csoportba osztottuk. Az anesztéziát iv szerekkel tartottuk fenn a protokoll teljes időtartama alatt a kontroll állatokban ($n = 5$), míg a többi protokollcsoportban 1 minimum alveoláris koncentrációjú (MAC) halothane ($n = 10$), isoflurane ($n = 10$), sevoflurane ($n = 7$) vagy desflurane ($N = 7$) került alkalmazásra állandósult MCh-okozta konstriktió alatt. 4-6 állandósult állapotot mutató impedanciamérést követően az inhalációs anesztetikumok adását megállítottuk a MCh-hatás változatlanságának megerősítésére. ZL értékeit percenként monitoroztuk a mérési protokoll teljes időtartama alatt.

Kétfázisú viselkedést találtunk mind a négy vizsgált párologó anesztetikum vonatkozásában: a MCh által kontrahált légutak kezdeti relaxációját minden esetben a légúti ellenállás fokozatos emelkedése követte. A vizsgált gázok közül az isoflurane hörgtágító hatása volt a legerőteljesebb ($-28,9\pm 5,5\%$ csökkenés Raw-ben 2 perc után, $p<0,05$) és tartott a leghosszabb ideig (7 perc), míg kevésbé markáns és rövidebb ideig tartó légút-tágító hatásokat kaptunk sevoflurane ($-21,1\pm 3,9\%$ $p<0,05$) és halothane ($-6,1\pm 1,7\%$, $p<0,05$) alkalmazása során. Desflurane alkalmazása a nagyfokú változékonyság mellett esetenként a légúti tónus fokozódását eredményezte.

Eredményeink arra a következtetésre vezettek, hogy szenzitizált tüdőben hosszabb ideje meglévő légúti konstriktió visszafordítása csak időlegesen lehetséges inhalációs anesztetikumok alkalmazásával. Isoflurane légzésfunkció javító hatása a legerőteljesebb allergiás eredetű légúti hiperreaktivitás állatkísérletes modelljében, míg desflurane alkalmazása esetenként további légzésfunkció romlást eredményezhet. E tanulmány anyagát tartalmazó angol nyelvű kézirat a British Journal of Anaesthesia folyóiratban került közlésre 2004-ben (Schutz N, **Peták F**, Barazzone-Argiroffo C, Fontao F, Habre W. Effects of volatile anaesthetic agents on enhanced airway tone in sensitized guinea pigs. *Br J Anaesth.* 92: 254-260, 2004. [IF: 2,469]).

I/3. Légzésmechanikai paraméterek és a tüdőtér fogat összefüggéseinek vizsgálata

Annak ellenére, hogy a tüdő különböző kóros állapotai maguk után vonják az effektív tüdőtér fogat és a légzésmechanika szimultán változását, a pontos összefüggés e két jellemző közt mindeddig alig képezte szisztematikus vizsgálat tárgyát. Ezért a pályázat által támogatott következő kísérletes munkánk a pulmonális mechanika és a tüdőtér fogat összefüggéseinek feltárását tűzte ki célul intakt tüdőben, hörgszűkület állapotában, és akut tüdőkárosodás kísérletes modelljében. Ezen kísérleteinket együttműködésben folytattuk a Genfi Tudományegyetem Orvostudományi Karának Kísérletes Aneszteziológiai Intézetével és svájci Vaud kanton egyetemi kórházának gyermekintenzív osztályának munkatársaival.

Kísérleteinket 12 altatott, nyitott mellkasú, mesterségesen lélegeztetett nyúlra végeztük. A kilégzésvégi tüdőterefogatot (FRC) kén-hexafluorid (SF_6) belélegeztetését követően, a kimosás alatt mért koncentrációváltozás elemzésével határoztuk meg. Az SF_6 intratracheális koncentrációját ultrahangos áramlásmérő által mért molekulasúly-adatokból számítottuk. FRC és ZL értékeit kontroll állapotban, MCh $8 \mu\text{g/kg/min}$ iv infúziója során, és az intra-alveoláris felületaktív anyag (surfactant) kimosását követően mértük meg. A felületaktív anyagot 15 ml/kg fiziológiás sóoldat 3-szori intratracheális beadásával majd lassú visszanyerésével távolítottuk el. FRC és ZL méréseket végeztünk 1, 3, és 7 H_2Ocm kilégzésvégi nyomásokon (PEEP) kontroll állapotban, MCh infúziója alatt és a surfactant kimosását követően is.

MCh-okozta hörgszűkület nem járt együtt a sem a szöveti mechanika, sem az FRC változásával. A légúti válaszok MCh infúziója alatt szignifikánsan magasabbak voltak alacsony PEEP szinten ($99 \pm 34\%$ emelkedés Raw-ban PEEP = 1 H_2Ocm mellett), mint magasabb tüdőterefogaton ($43 \pm 7\%$ PEEP = 7 H_2Ocm mellett). A surfactant kimosása ezzel ellentétben szignifikáns csökkenést okozott FRC-ben mind 1 ($-36 \pm 13\%$), 3 ($-26 \pm 4\%$), és 7 H_2Ocm (- $18 \pm 5\%$) PEEP fenntartása mellett. Az intrapulmonális felületaktív anyag eltávolítása jelentősen megnövelte a légúti és szöveti mechanikai paraméterek függését a tüdőterefogattól: a kontroll állapothoz képest talált erőteljes Raw emelkedés 1 H_2Ocm nyomáson ($255 \pm 82\%$) jelentősen csökkent 3 ($77 \pm 18\%$) és 7 H_2Ocm ($20 \pm 9\%$) PEEP szinteken.

Ezen eredményeink arra utalnak, hogy a MCh-okozta hörgszűkületet nem jár együtt a funkcionális tüdővolumen jelentős változásával, míg a tüdővolumen csökkenése jelentősen hozzájárul a légúti és szöveti paraméterek romlásához az intra-alveoláris felületi feszültség csökkenése esetén. Következésképp, mesterséges lélegeztetés alatt a PEEP emelése hatékony eszköz lehet a fiziológiás gázcsere fenntartásához a surfactant-funkció romlása esetén, míg bronchokonstrikció állapotában az átlagos tüdővolumen emelésének gázcsere javító hatása minimálisnak várható.

E tanulmány az American Thoracic Society 2003 évi kongresszusán poszter formájában került bemutatásra Seattle-ben, illetve a Respiratory Physiology and Neurobiology folyóiratban fogadták el közlésre (Habre W, Scalfaro P, Schutz N, Stucki P, **Peták F.** Measuring end-expiratory lung volume and pulmonary mechanics to detect early lung function impairment in rabbits. *Respir Physiol Neurobiol.* 2005. *In press.* [IF: 1,685]; a Medline előzetes Epub közleményként már nyilvántartja).

II. 2003 évben végzett kutatások:

II/1. Pulmonális keringés stabilizáló hatásának vizsgálata a tüdő perifériájára

Klinikai és állatkísérletes körülmények között kapott előzetes eredményeink arra utaltak, hogy a tüdőszövet viszkózus és elasztikus mechanikai tulajdonságai a pulmonális keringés megszűntével romlanak, majd a kisvérköri keringés újraindulásával a tüdő mechanikai állapota azonnali javulást mutat. A megfigyelések arra utalnak, hogy a tüdő reperfúziójakor jelentkező mechanikai javulás a feltöltött pulmonális érrendszer kifeszítő hatásának tulajdonítható. Ezen hipotézis igazolására izolált tüdők 3 csoportján határoztuk meg a légúti és a szöveti mechanikai paramétereket 8, 4, 2, 1, 0 hPa légúti középnyomás fenntartása mellett. Kísérleteinket a) nem perfundált, b) az állat saját vérével perfundált, és c) egy a vérrel azonos ozmotikus és onkotikus nyomású oldattal (8% albumin) perfundált tüdőkön végeztük. A protokollcsoportok kialakítása mögött az a megfontolás húzódott, hogy ha a tüdő reperfúziójával jelentkező mechanikai javulás a feltöltött pulmonális érrendszer kifeszítő hatásának tulajdonítható, akkor hasonló eredményeket kapunk a b) és c) csoportban. Egyéb, biológiai folyamatok dominanciája esetén a mechanika javulását kizárólag a b) csoportban vártuk. A tüdők perfúziója fiziológiás pulmonális artériás és vénás nyomásértékkel történt. A mechanikai paraméterekben észlelt változások hátterének feltárására szövettani vizsgálatokat végeztünk perfundálatlan és vérrel perfundált tüdőkben. A pulmonális perfúzió megjelenésekor létrejött tüdőterefogat változást alámerítéssel határoztuk meg.

Kimutattuk, hogy a pulmonális keringés újraindulása a tüdő szöveti rugalmasságának és viszkózus ellenállásának javulását eredményezi, míg a légúti paraméterekre elhanyagolható hatása van. A szöveti paraméterek javulása továbbá együtt járt a kilégzésvégi tüdőterfogattal emelkedésével. A pulmonális érrendszer feltöltöttsége markánsan befolyásolta a mechanikai paraméterek függését a tüdőterfogattól: alacsony terfogatokon a perfundálatlan tüdők szöveti paramétereiben jelentős emelkedést tapasztaltunk. Eredményeink nem mutattak eltérést vér és albumin perfúziója között. A hisztológia vizsgálatok során az elasztin- és a kollagén-szálak alveolusfalhoz viszonyított radiális elrendeződését tapasztaltuk perfundálatlan tüdőkben, míg ezen rostok az alveolusfal érintőjének irányába fordultak a perfúzió megjelenésével.

Eredményeink a keringés és a légzés kölcsönhatásának egy új vonatkozására vethetnek fényt. A tüdőkapillárisok perfúziója csökkenhet vagy meg is szűnhet a tüdő apikális részeiben, vagy a pulmonális keringésének csökkenésével együtt járó) kórképekben (pl. hypovolemia vagy embólia). Adataink arra utalnak, hogy a perfúzió csökkenése a parenchyma mechanikai ellenállásának jelentős növekedését okozza az érintett területeken. Az alulperfundált vagy perfundálatlan tüdőrészek megnövelt ellenállása a tüdőbe beáramló levegőt az ép keringésű területekre irányíthatja át, mely jelenség a tüdő sönt-keringésének csökkenéséhez járulhat hozzá.

Méréseinket a Swiss Society of Anaesthesia éves kongresszusán adtuk elő. Az angol nyelvű kéziratunk az *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology* folyóiratban jelent meg 2004 októberében (Peták F, Babik B, Hantos Z, Morel DR, Pache JC, Biton C, Suki B, Habre W. Impact of microvascular circulation on peripheral lung stability. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 287:L879-889, 2004. [IF: 4,051]).

II/2. Légúti és szöveti mechanika változásai veleszületett szívfejlődési rendellenességek műtéti korrekciója után gyermekekben

A veleszületett szívfejlődési rendellenességek többsége a pulmonális hemodinamika megváltozását vonja maga után. Pitvari szintű söntök (ASD I, ASD II) esetén a megnövekedett kisvérkörü véráramlás (Qp) normális pulmonális artériás nyomás (Ppa) értékekkel jár együtt. Más kórképek, mint például a tetralogy of Fallot (TOF) a tüdő hypoperfúzióját okozzák. E két alapvetően különböző hemodinamikai csoportban a műtéti korrekció hatására bekövetkező mechanikai változások tanulmányozását tűztük ki célul gyermekekben.

A légzőrendszer bemenő mechanikai impedanciáját (Zrs) határoztuk meg kényszerített oszcilláció módszerével gyermekek két csoportján. Kórosan magas Ppa és Qp értékekkel rendelkező elárasztott tüdejű gyermekek kerültek a HP (high pressure) csoportba, míg az alacsony pulmonális perfúzióval együtt járó szívfejlődési rendellenességgel született gyermekeket az LP (low pressure) csoportba soroltuk. Zrs értékeit a korrekciós szívműtéthez szükséges anesztézia és mechanikai lélegeztetés állapotában határoztuk meg a mellkasnyitást megelőzően, illetve a mellkas zárása után. Zrs adatokból a légúti ellenállás (Raw) és a szöveti csillapítás (G) és rugalmasság (H) tényezőit modellillesztéssel határoztuk meg.

A korrekciós műtétet követő pulmonális vérnyomás és áramlás csökkenése a gyermekek HP csoportján Raw szignifikáns csökkenését okozta (29 ± 9 [SE]%, $p < 0,05$), míg Raw emelkedését tapasztaltuk a műtétet követően az LP csoportban (24 ± 17 %, NS). A G-ben bekövetkező változások nem bizonyultak jelentősnek sem a HP ($6,4 \pm 13$ %) sem az LP (27 ± 23 %) csoportban, míg H emelkedést mutatott mind a HP (23 ± 8 %, $p < 0,05$) mind az LP (36 ± 7 %, $p < 0,01$) gyermekekben.

Eredményeink azt mutatják, hogy a szívfejlődési rendellenességgel született gyerekekben a műtétet megelőző pulmonális hemodinamikai állapot határozza meg a korrekciós műtét hatására létrejött mechanikai változásokat: a fiziológiás hemodinamika sebészi helyreállítása csak az elárasztott tüdejű gyermekekben vezet a légúti funkció azonnali javulásához. A szöveti paraméterek egyöntetű romlásáért valószínűleg az extrakorporális keringés és/vagy az anesztézia/mechanikai ventiláció okolható.

Az angol nyelvű kézirat a *Pediatric Pulmonology* folyóiratban került elfogadásra 2004 májusában (Habre W, Schutz N, Pellegrini M, Beghetti M, Sly PD, Hantos Z, Peták F.

Preoperative pulmonary hemodynamics determines changes in airway and tissue mechanics following surgical repair of congenital heart diseases. *Pediatr Pulmonol.* 38:470-476, 2004. [IF: 1,662]).

II/3. Metakolin, hisztamin, és allergén kiváltotta tüdőválaszok mechanikai hatásának kivédése farmakológiai előkezelések alkalmazásával szenzitizált tengerimalacokban

A konstrikatív állapot megelőzésére vagy kezelésére gyakran β_2 -agonisták, szteroidok, antihisztaminok, vagy antikolinerg szerek alkalmazása válik szükségessé. Ezen előkezelések hatékonyságát vizsgáltuk kolinerg, hisztamin és allergiás úton kiváltott tüdőkonstrikció megelőzésére.

Kísérleteinket altatott, mesterségesen lélegeztetett nyitott mellkasú tengerimalacok 7 csoportján végeztük (táblázat). Hat csoportban az állatokat ovalbuminnal szenzitizáltuk a kísérleteket megelőzően (CS-AH csoportok); egy nem szenzitizált (C csoport) csoport szolgált a kialakult légúti hiperreaktivitás ellenőrzésére.

Csoport	N	Szenzitizálás	Előkezelés	Beadás módja	Kezelés (nap)
C	6	Nem	Nincs		
CS	9	Igen	Nincs		
B2	8	Igen	Salmeterol, 100 μ g	aeroszol	5-10
AI	7	Igen	cromolyn sodium, 2 mg	aeroszol	5-10
IS	8	Igen	Fluticasone, 100 μ g	aeroszol	0-10
AC	5	Igen	ipratopium bromide, 0,25 mg	aeroszol	5-10
AH	7	Igen	clemastine 250 μ g, ranitidine 2 mg	intraperitoneal	5-10

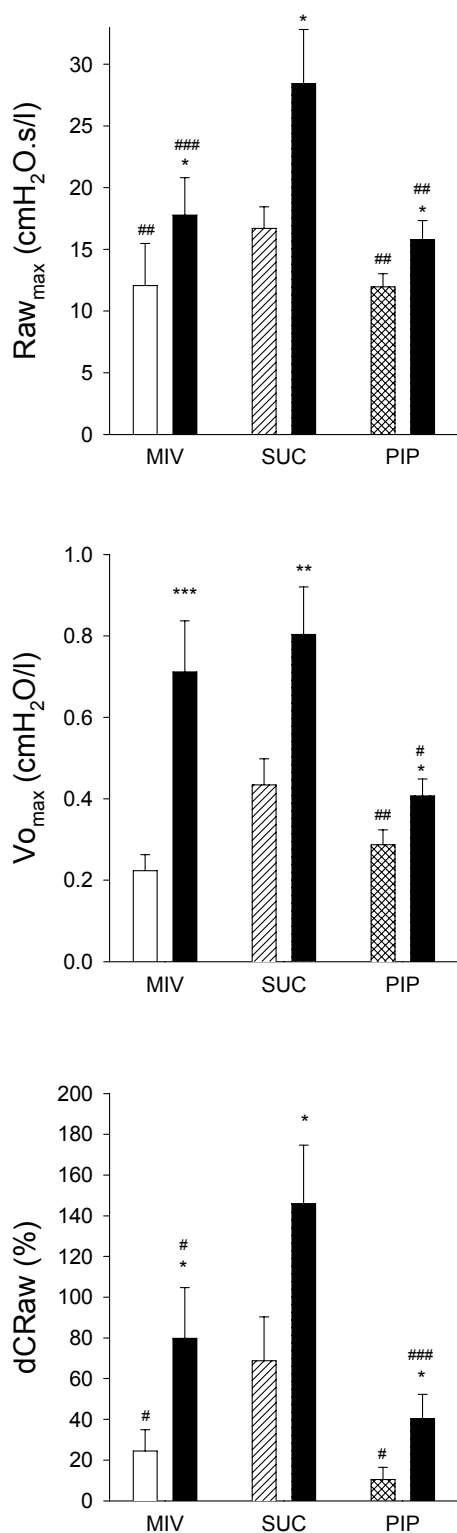
Légúti ellenállás (Raw) és a tüdőszöveti mechanikára jellemző disszipatív (G) és elasztikus (H) tényezőket a tüdő bemenő impedanciájának (ZL) modell alapú elemzéséből nyertük. ZL értékeit kontroll állapotban, majd intravénás metakolin (1, 2 és 4 μ g/kg/min), hisztamin (0,2, 0,4 és 0,8 μ g/kg) és az allergén (ovalbumin 0,2 mg) beadását követően határoztuk meg.

Metakolin infúziója Raw és G emelkedését okozta, míg H értékeiben változásokat nem tapasztaltunk, ami inhomogén légúti konstrikció kialakulására utal. Antikolinerg előkezelés ipratopiummal jelentősen csökkentette a metakolin által okozott légúti szűkületet, a β_2 -agonista salmeterolnak és az intravénás (cromolyn sodium) és inhalációs szteroidoknak (fluticasone) statisztikailag kimutatható kedvező hatása volt, míg a többi előkezelés hatástalannak bizonyult e konstriktor szer ellen. Hisztamin által kiváltott Raw, G és H emelkedések ellen kizárólag az antihisztamin előkezelés mutatkozott hatásosnak. A szenzitizált kontroll állatokban (CS csoport) tapasztalt allergiás eredetű Raw (120 \pm 90%), G (201 \pm 126%) és H (86 \pm 71%) válaszok markáns csökkenést mutattak antihisztaminnal (18 \pm 11%, 13 \pm 9%, 3 \pm 3%) és intravénás szteroiddal (29 \pm 13%, 35 \pm 22%, 18 \pm 10%) előkezelt állatokban.

Eredményeink arra utalnak, hogy a bronchokonstrikció megelőzésére alkalmazott β_2 -agonista, antikolinerg, antihisztamin vagy szteroid előkezelés hatékonysága függ a konstrikciót kiváltó mechanizmustól: az antikolinerg szerek metakolinnal szemben, az antihisztaminok endogén vagy exogén hisztamin esetén, míg a szteroidok az antigén/antitest reakciók pulmonális hatása ellen hatékonyak.

A tanulmány az European Respiratory Society és a Swiss Society of Anaesthesia éves kongresszusain poszter illetve előadás formájában került bemutatásra. Az angol nyelvű kézirat a *Respiratory Physiology & Neurobiology* folyóiratban jelent meg 2004 júliusában (Schutz N, **Peták F**, Barazzzone-Argiroffo C, Sly PD, Habre W. Prevention of bronchoconstriction in sensitized guinea pigs: efficacy of common prophylactic drugs. *Respir Physiol Neurobiol.* 141: 167-78, 2004. [IF: 1,685]).

III. 2004 évben végzett kutatások:



1. ábra. Mivacurium (MIV), succinylcholin (SUC) és pipecuronium (PIP) hatása a légúti ellenállásra (Rawmax), annak relatív változására (dCRaw) és változási sebességére (Vomax).

A pályázatban vállaltakkal összhangban, a kutatási terv harmadik évében végrehajtott kísérleteink főleg endogén hisztamin légzésmechanikai hatásainak vizsgálatát tűzték ki célul normál és allergiás állatokban. Eredeti munkatervünkben e kísérleteinket ovalbuminnal szenzitizált tengerimalacokon terveztük. Korábbi munkánk azonban a nyúl, mint állatkísérletes modell alkalmasságát bizonyította izomrelaxánsok pulmonális hatásainak vizsgálatára (Anesthesiology. 2002; 96: 409-15.), ezért ezt a fajt használtunk az endogén konstriktor mediátorok légúti és szöveti hatásainak tanulmányozására.

III/1. Módszertani tanulmányok nyulakon

Ennek megfelelően nyulak ovalbuminnal történő szenzitizálásának módszertani kérdéseivel foglalkoztunk 2004. évi kutatásaink kezdetén. Ezen előkísérleteinkben kidolgozott eljárásról, mely két intraperitoneális injekciót (ovalbumin 100 µg és Al(OH)³ 10 mg) öt egymást követő napon történő 1%-os ovalbumin aeroszolozását tartalmazta, bizonyítottuk a légúti hiperreaktivitást (BHR) kiváltó hatását exogén hisztaminra és metakolinra (MCh) is. Ezen módszerrel szenzitizált állataink légúti ellenállás értékei 66±12%-al emelkedtek 8 µg/kg MCh-ra, a kontroll csoport 33±5% (p<0,05) emelkedésével szemben. Hasonlóan, 20 µg/kg hisztamin szignifikánsan nagyobb légúti válaszokat okozott az így szenzitizált nyulakban, mint a kontroll csoportban (57±7% vs. 32±4%, p<0,05).

Módszertani fejlesztéseink továbbá egy olyan mérési technika adaptálására is irányultak, mely alkalmas az endogén és exogén konstriktor mediátorok hörgszűkítő hatásainak időbeni monitorozására, azaz a konstriktó kialakulásának időbeni követésére. E célra a kisaplitúdójú, alacsonyfrekvenciás (0,5-11 Hz) kényszerrezgéses módszer módosítását adaptáltuk nyúlra, mellyel a légúti és szöveti mechanika változását követtük 90 másodpercen át 2 másodperces felbontással.

III/2. Endogén konstriktor mediátorok légúti és szöveti hatásai

A módszertani kérdések tisztázását követően a klinikai gyakorlatban rendszeresen használt markáns hisztaminfelszabadító izomrelaxánsok (mivacurium, succinylcholin) légúti hatásait hasonlítottuk össze egy semleges szerrel (pipecuronium) kontroll és ovalbuminnal szenzitizált nyulakon. Méréseink rámutattak arra, hogy az allergiás eredetű BHR jelenléte a succinylcholin és mivacurium okozta légúti válaszokat jelentősen megnövelte, míg a pipecuronium esetén nem tapasztaltunk szignifikáns

változást. A bronchokonstrikció kialakulásának időbeni követése azt is megmutatta, hogy i) az allergiás eredetű BHR nemcsak a légúti válaszok mértékének növekedését okozta, hanem a válaszreakciók sebességét is jelentősen növelte (1. ábra), továbbá ii) hasonló erősségű exogén és endogén konstriktor válaszok esetén az utóbbiban a légúti ellenállás maximuma időben jelentősen később jelentkezett. Ezen mérési eredményeinkből levont következtetéseink potenciális klinikai haszonnal járhatnak rámutatva arra, hogy mivacurium és succinylcholin hatására felszabaduló endogén konstriktor mediátorok a légzésfunkció jelentős, és hosszabb ideig tartó (percekben mérhető) romlását eredményezhetik légúti hyperreaktivitás kórképében. Következésképp a mivacurium és a succinylcholin fokozott légúti konstriktor választ kiváltó hatását figyelembe kell venni a szerek alkalmazásakor BHR-rel rendelkező betegek altatása esetén.

E mérési eredményeket összefoglaló absztraktokat az American Anesthesiological Society és a European Respiratory Society 2005-ös kongresszusain közöltük; az összefoglaló cikket az Anesthesia Analgesia folyóirat fogadta el közlésre (**Peták, F**, Hantos Z, Adamicza Á, Gality H, Habre, W. Development of bronchoconstriction following administration of muscle relaxants in rabbits with normal or hyperreactive airways. *Anesth Analg*. 2006. [IF: 2,18]).

III/3. Egyéb kutatási protokollok

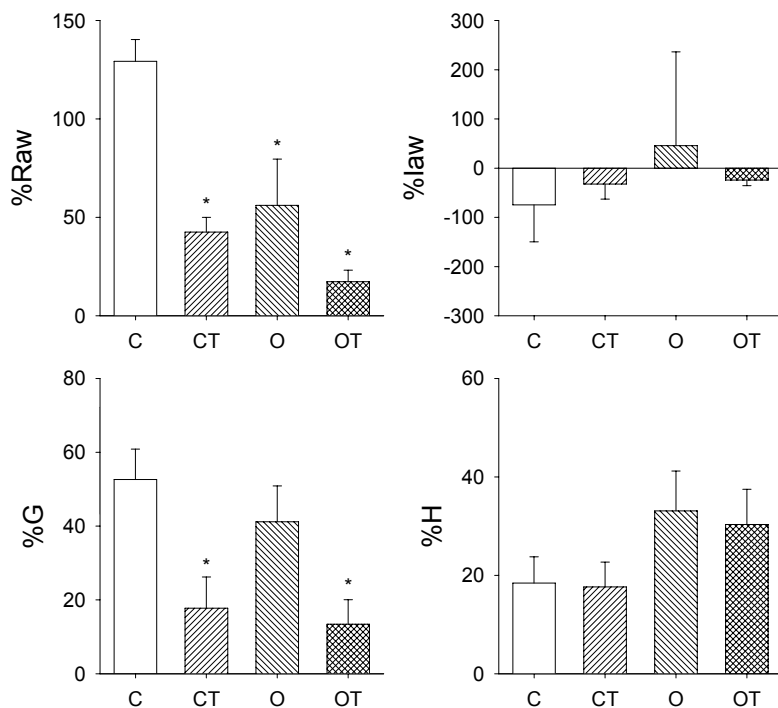
Ezen túl egy kisebb módszertani tanulmányt is végeztünk, mely a bronchoalveoláris lavage és a légzésmechanikai vizsgálatok kombinációjának neminvaszív továbbfejlesztését tűzte ki célul túlélő patkányokon. A tökéletesített módszer utat nyithat longitudinális kísérletek elvégzésére, mely alkalmas különböző kezelések légzésmechanikára és a bronchoalveoláris folyadék sejtösszetételére kifejtett hatásainak nyomon követésére egy patkány ismételt mérésével.

Eredményeinket a Respiratory Physiology and Neurobiology folyóirat fogadta el közlésre (Novák Z, **Peták F**, Bánfi A, Tóth-Szuki V, Baráti L, Kósa L, Bari F, Székely E. An improved technique for repeated bronchoalveolar lavage and lung mechanics measurements in individual rats. *Respir Physiol Neurobiol*. 2006. [IF: 1,685] a Medline előzetes Epub közleményként már nyilvántartja).

IV. 2005. évben végzett kutatások:

IV/1. Endothelin szerepének vizsgálata hyperoxia-kiváltotta tüdőkárosodásban

Aneszteziológiai beavatkozások gyakran magas oxigén koncentráció lélegeztetését kívánják meg az adekvát gázcsere fenntartására. Huzamosabb időn keresztül magas oxigénkoncentráció belégzése ugyanakkor a tüdőszövet károsodásához vezethet. Mivel az így kialakult oxigén-toxicitás hatásmechanizmusa nem teljesen tisztázott, egerekben végzett kísérleteinkben vizsgálni kívántuk az endothelin-1 (ET-1) peptid szerepét hiperoxiában. Kísérleteinket állatok négy csoportján végeztük: kontroll állatok és 60 órára 100% oxigént lélegző állatok kezeletlen csoportján, valamint kombinált ETA/ETB receptor antagonistával (tezosantan, 10 mg/kg/nap 6 napig adva) kezelt kontroll és 60 órás hiperoxiás egereken. A receptor antagonistát a hasfalba steril körülmények közt beültetett intraperitoneális pumpával adagoltuk. A légzőrendszer bemenő impedanciáját (Zrs) mértük meg kényszerített oszcilláció módszerével az előkezeléseket követő napon altatott, mesterségesen lélegeztetett egerekben. Zrs értékeit kontroll állapotban és ET-1 (2 µg/kg) intravénás beadását követően határoztuk meg. A légúti ellenállás (Raw) és a szöveti csillapítás (G) és a rugalmasság (H) tényezőit Zrs értékekből modellillesztéssel kaptuk a kísérletek minden egyes szakaszában. A plazma ET-1 szintjét ELISA módszerrel határoztuk meg.



2. ábra. A légúti ellenállás (Raw), inertance (law) és a szöveti csillapítás (G) és rugalmasság (H) tényezőinek változása endothelin-1 beadását követően kontroll állatokban (C) és 60 órára 100% oxigént lélegző állatok kezeletlen csoportján (O), valamint kombinált ETA/ETB receptor antagonistával kezelt kontroll (CT) és 60 órás hiperoxiás egerekben (OT).

Oxigénnel kezelt állatok plazma ET-1 szintjében jelentős emelkedést tapasztaltunk ($1,6 \pm 0,3$ pg/ml vs. $3,3 \pm 1,6$ pg/ml). Tezosentan előkezelés szignifikánsan csökkentette a hyperoxia által kiváltott G ($13,1 \pm 1,7$ vs. $9,6 \pm 0,3$ H₂Ocm/l, $p < 0,05$) és H (59 ± 9 vs. 41 ± 5 H₂Ocm/l, $p < 0,05$) emelkedéseket, és lecsökkentette az ET-1 indukálta válaszokat Raw-ben (2. ábra). Hiperoxia jelenléte továbbá az ET-1 válaszok csökkenéséhez vezetett Raw-ban, míg a szöveti paraméterekben észlelt válaszok emelkedését okozta.

Ezen eredmények az endothelin receptorok szerepére mutatnak rá a hiperoxia-okozta tüdőkárosodás mechanizmusában.

Kombinált ET-1 receptor antagonizmus ígéretes lehetőséget kínál az oxigén toxicitás káros hatásainak csökkentésére a légzőrendszerben; ennek tisztázása alapja egy jövőben

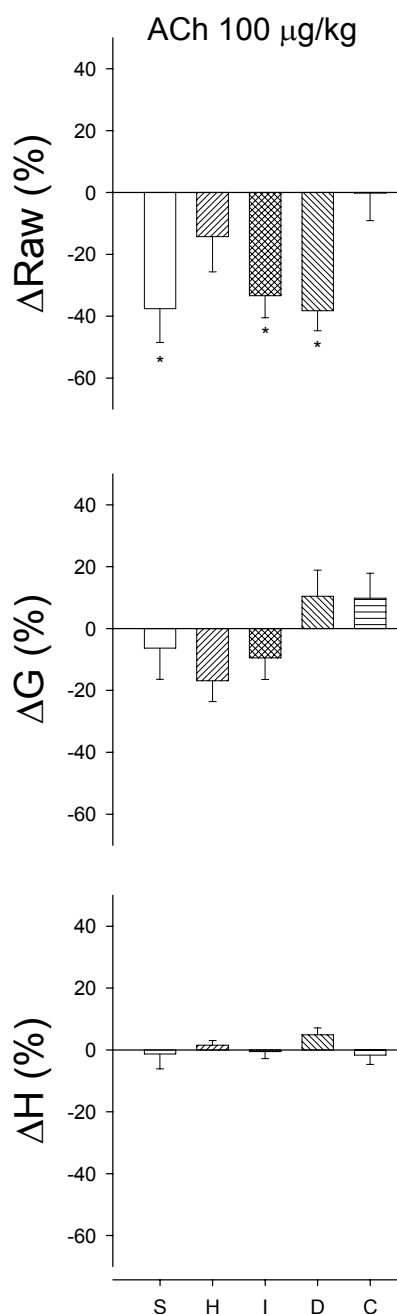
kibontakozó, e témát részleteiben vizsgáló kutatási projektnek.

Az eredményeinket összefoglaló cikket a Respiratory Research folyóirat fogadta el közlésre (Habre W, **Peták F**, Ruchonnet-Metrailler I, Donati Y, Tolsa J-F, Lele E, Albu G, Beghetti M, Barazzzone-Argiroffo C. The role of endothelin-1 in hyperoxia-induced lung injury in mice. Respir Res. 2006. [IF: 4,03]).

IV/2. Altatógázok hatása a légúti és szöveti mechanikára izolált perfundált patkánytüdőben

Az inhalációs anesztetikumokról korábbi vizsgálatinkban kimutattuk, hogy a légúti konstriktó visszafordítására az isoflurane légzésfunkció javító hatása a legerőteljesebb, míg desflurane alkalmazása esetenként további légzésfunkció romlást eredményezhet (I/2). In vivo kísérleteinkből ugyanakkor nem kaptunk választ arra a fontos kérdésre, hogy a desflurane irritációs tulajdonsága az altatógáz közvetlen muszkarin típusú kolinerg receptorokra kifejtett hatásából ered-e vagy a keringési és/vagy idegrendszeren át kifejtett közvetett hatásnak tulajdonítható. Ezen mechanizmusok szerepének tisztázására az I/2 pontban részletezett kísérleteket megismételtük izolált perfundált patkánytüdőn, ami lehetővé tette az altatógázok közvetett hatásainak kivédését, míg a közvetlen hatások továbbra is érvényesültek.

ZL értékeit határoztuk meg izolált patkánytüdő állandósult perfúziója alatt alapállapotban, majd acetilkolin (ACh 0,1 majd 0,2 mg/kg) pulmonális artériába történő beadását követően. A kísérletek első fázisa altatógáz nélkül történt, majd a kontroll és az ACh-t követő méréseket is megismételtük halothan (n=6), isoflurane (n=9), sevoflurane (n=6) vagy desflurane (n = 8) 1 minimális alveoláris koncentrációjú (MAC) lélegeztetése mellett. A légúti ellenállást (Raw) ZL értékekből modellillesztéssel kaptuk a kísérletek minden egyes szakaszában.



3. ábra. Légúti és szöveti paraméterekben acetilkolinra kapott válaszkülönbségek altatógáz nélkül, illetve sevoflurane (S) halothane (H), isoflurane (I) és desflurane (D) adása alatt. C: kontroll csoport ahol mindkét provokáció altatógáz nélkül történt.

inflexió pontja körüli régióknál voltak legintenzívebbek. A kipattanások által generált hangjelenségek számában az emelkedés már kisebb metakolin dózisoknál jelentkezett (10 μg/kg-nál), és statisztikailag szignifikánsan nagyobb mértékű emelkedést mutatott (38-szoros), mint a változások Raw-ban vagy H-ban (2-szeres, 4. ábra).

Ezen eredmények azt bizonyítják, hogy a légutak kinyílása által generált hangok mérése és analízise érzékenyebb módszer a tüdőelzáródások detektálására, mint a légúti ellenállásban vagy az

Raw alapértékei jelentősen csökkentek desflurane (-31,2±3,8%, $p<0,05$) és sevoflurane (-18,0±4,5%, $p<0,05$) adása mellett. Mind a négy inhalációs anesztetikum szignifikánsan csökkentette az ACh hatására létrejött bronchokonstriktációt (3. ábra). Legkisebb ilyen jellegű hatást a halothane (-14,3±11,4%, $p<0,05$) míg a legerőteljesebb hatást a sevoflurane (-37,5±10,9%, $p<0,05$) mutatta. Ezen eredmények a desflurane és sevoflurane erőteljes légúti tónus csökkentő tulajdonságaira utalnak mind alapállapotban mind meglévő bronchokonstriktációban. A desflurane erőteljes légúti szűkületet kivédő hatása azt mutatja, hogy az altatógáz irritatív hatása közvetett, valószínűleg idegrendszeri és/vagy humorális mediátorokkal közvetített.

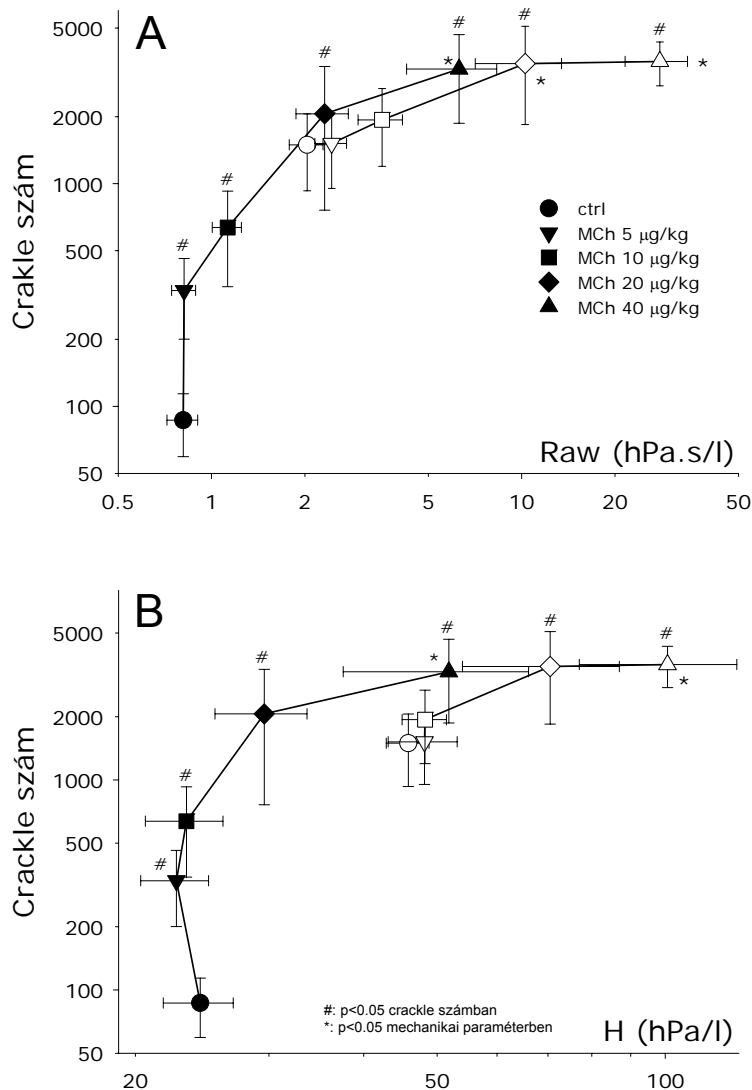
A mérési anyagot előadtuk az American Society of Anesthesiologist 2005. évi kongresszusán. Az eredményeket közzlésre az Acta Anaesthesiologica Scandinavica folyóiratba nyújtottuk be, a kézirat jelenleg bírálati szakaszban van.

IV/3. Légúti elzáródások detektálása légzésmechanikai paraméterek mérésével és légzési hangok analízisével

Kísérleteink alaphipotézise az volt, hogy a tüdőrégiók elzáródása megjelenik a légzésmechanikai paraméterekben és a régiók újranyílása a tracheában pattogó, ún. crackle hangok keletkezéséhez vezet. Feltételeztük továbbá, hogy az újranyílási crackle hangok adekvát analízise érzékenyebben mutatja a légzésfunkció korai romlását, mint a légutak bemeneténél meghatározott mechanikai paraméterek változása.

Hipotézisünk igazolására hat altatót, mesterségesen lélegeztetett malacot használtunk. A légzőrendszer alacsonyfrekvenciás bemenő impedanciáját (Zrs) határoztuk meg 1 és 4 H₂Ocm nyomásokon, és a tracheába vezetett miniatűr mikrofonnal kinyílási hangokat detektáltuk a Zrs mérések követő 30 H₂Ocm nyomásig történő lassú felfújások során. Zrs és hangméréseket kontroll állapotban, és metakolin növekvő dózisú infúziója alatt (5-40 μg/kg) végeztük. Zrs mérésekből a légúti ellenállás (Raw) és a légzőrendszeri rugalmasság tényezőit (H) modellillesztéssel határoztuk meg. Az egyedi crackle hangokat a hang-regisztrátum felüláteresztő szűrését követően eseménydetektáló célprogram segítségével azonosítottuk.

Raw és H alap- és metakolin infúziója alatt mért értékei is magasabbak voltak alacsony transzrespiratórikus nyomás fenntartása mellett (Raw: 1165±188% vs 602±162%, $p=0,045$; H: 112±28% vs 84±29%, $p=0,040$). A légúti kinyílások hangjelenségei a légzőrendszer nyomás-térfogat görbéjének alsó



elasztanszban mért változások követése. A légúti elzáródások akusztikai identifikálásán alapuló érzékeny módszer hozzájárulhat az optimális lélegeztetési stratégia vezetéséhez olyan betegekben, ahol a tüdőelzáródások fokozott veszélye jelentkezhet.

Eredményeinket összefoglaló közleményt az European Respiratory Journal fogadta el közlésre (**Peták F, Habre W, Babik B, Tolnai J, Hantos Z. Crackle sound recording to monitor airway closure and recruitment in ventilated pigs. *Eur Respir J.* 2006. [IF: 3,096]**)

4. ábra. Légúti ellenállásban (Raw) és tüdőszöveti rugalmasságban (H) mért változások a crackle számban észlelt emelkedések függvényében PEEP 4 (kitöltött szimbólumok) és 1 H₂Ocm (üres szimbólumok) mellett kontrol állapotban (ctrl) és emelkedős dózisú metakolin infúziója alatt.